

令和元年6月13日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05867

研究課題名(和文)実バイオマス発酵に適した高性能キシロース資化酵母の新規プラットフォームの開発

研究課題名(英文) Development of a new platform for high performance xylose utilization yeast suitable for real biomass fermentation

研究代表者

KAHAR PRIHARDI (KAHAR, PRIHARDI)

神戸大学・科学技術イノベーション研究科・部局研究員

研究者番号：90520958

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：食料との競合や栽培農地の乱開発を生じないリグノセルロース系バイオマスからのエタノール発酵生産が期待されている。しかしながら、発酵に用いられる酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、キシロースを代謝しないため、発酵収率が低くなり、改善が求められている。これに対して、我々は NBRC に登録されているすべての酵母のライブラリーをもっており、多数のキシロースを取り込む可能な酵母を発見した。本研究ではキシロース取り込み機構を解明し、関与する関連遺伝子を同定して単離し、さらに高性能な発酵酵母にキシロース資化代謝系を導入することで実プロセスに適したキシロース発酵酵母を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低炭素・循環型社会の構築の必要性を背景に、食糧生産と競合せずかつ賦存量の多いリグノセルロース系バイオマスからバイオエタノール生産が世界的に期待されている。本研究は、その発酵収率を低下させ、実用化を阻む要因である酵母のキシロース代謝能を改善(付与)し、実用化に向けたキシロース代謝酵母の新規プラットフォームを開発するもので、社会的・学術的に高い重要性と緊急性を有している。本研究では、実バイオマスの糖液発酵能の高い酵母にそれらの関連遺伝子を導入することで実プロセスに適したキシロース代謝酵母の開発と同時にストレス環境下での発酵プロセスの実現に本研究の特徴と独創性がある。

研究成果の概要(英文)：Ethanol fermentation produced from lignocellulosic biomass that does not cause competition with food and over-exploitation of cultivated farmland is expected. However, since the yeast *Saccharomyces cerevisiae* used for fermentation could not metabolize xylose that abundantly produced during the saccharification of lignocellulose biomass, the fermentation yield from real biomass is becoming low, therefore intensive improvement is required. Recently, we have a library of all the yeasts registered at NBRC and have found a robust yeast among them that can high potentially take up xylose even the fermentation occurred under the presence of inhibitory chemical compounds. Therefore, in this study, (1) xylose uptake mechanism was elucidated, (2) related genes involved were identified and isolated, and (3) xylose fermentation yeast suitable for the actual process was obtained by introducing xylose utilization metabolism system into high-performance fermentation yeasts.

研究分野：農芸化学

キーワード：キシロース発酵 キシロース取り込み 酵母 エタノール発酵

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

リグノセルロース系バイオマス(実バイオマス)たとえば東南アジアに賦存量の多いサトウキビバガスやパーム椰子房等はグルコースポリマーである澱粉と違って糖化の過程でグルコースの他にキシロースも同等量で分解される。一方、バイオ燃料となるエタノールの生産システムの多くは既存のワインやビールの製造技術を採用しており、現在ではエタノール生産性および安全性の高い酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は生産株として用いられている。しかし、本酵母はグルコースをエタノールに代謝するものの、キシロースに対しては全く代謝しない。その理由は、*S. cerevisiae* 酵母にはキシロース代謝機能を欠けており、さらにキシロースはグルコースと違って酵母内にあまり取り込まないのである。実バイオマスから高効率にエタノール発酵を行うために、グルコースとキシロースの両糖類をエタノールへ高収率で変換できる *S. cerevisiae* 酵母を育種する必要がある。これまで、キシロース資化性酵母 *Pichia stipitis*、大腸菌、カビ等から単離したキシロース代謝関連遺伝子を *S. cerevisiae* 酵母に導入し、キシロースの代謝利用を改善する試みがあったが、このように異種遺伝子群を *S. cerevisiae* 酵母で発現させるとエタノール発酵効率も低下すると報告されている。残念ながら *S. cerevisiae* 酵母のキシロースを代謝するために重要と思われるキシロースの取り込みも改善されていない現状である。

*Saccharomyces cerevisiae* 酵母は常にキシロースを炭素源として増殖およびエタノール発酵(グルコース程ではない)を行うことができる。キシロースをエタノールへ変換するためには、キシロースをキシロースに変換する必要がある。そこで付与されるキシロース代謝では、まずキシロースをキシロース還元酵素(XR)によってキシリトールにし、さらにキシリトール脱水素酵素(XDH)によってキシロースに変換する一連の反応が用いられる。異種の XR と XDH を形質転換すると、この二つの酵素が異なる補酵素(NADP<sup>+</sup>型、NAD<sup>+</sup>型)を要求するため、酸化還元バランスが崩れてキシリトールの生成が多くなる。最近、XDH の補酵素特異性を NAD<sup>+</sup>型から NADP<sup>+</sup>型に変換することでキシリトールの生成量が少なくなり、キシロースからのエタノール収率が向上された実例が報告されている。しかし、そのキシロースの代謝効率は野生株と比べて多少向上されたものの、実際の発酵時間が長くエタノールの収率も顕著に向上できていない。導入されたキシロース代謝系は何らかの原因で正しく機能せず、キシロースからのエタノール発酵の効率は向上されていない。今後、*S. cerevisiae* 酵母におけるキシロース代謝効率の向上は実バイオマスからのバイオエタノール生産の実証過程において糖化技術に続いて重要な課題として位置づけられる。

キシロースの取り込みはグルコースの代謝利用との競合によって悪くなると考えられる。その理由は、キシロースはグルコースと同じくヘキソーストランスポーターを介して細胞内に取り込まれること、糖代謝が悪くなるとグルコースと共にキシロースの取り込みが悪くなると考えられる。*S. cerevisiae* 酵母では解糖系を中心になってグルコースの消費が高く維持されているので、他の糖代謝はすでに抑えられている状態にある。特に実バイオマスからの糖化液を使うと糖化液に含まれる阻害物質(フルフラール、糖アルデヒド、ギ酸、酢酸等)は細胞の基礎代謝機能を阻害させ、糖代謝を悪くする。

### 2. 研究の目的

申請者は、実バイオマスからの微生物生産用高性能な酵母プラットフォームを獲得するために、平成 25 年度から日本国内微生物資源センターNBRC に登録されているすべての酵母株(約 3000 株)を対象にスクリーニングを行っており、すでに目的の微生物生産用高性能な酵母プラットフォームを獲得した。そこで、本研究ではまずスクリーニングによって獲得した酵母プラットフォームからキシロース取り込み可能な酵母を網羅的に選定し、キシロースの取り込み機構、グルコースの代謝利用との関係、さらに高度なオーミックス手法を駆使した *in vitro* 解析を行い、阻害剤の多く含まれている実バイオマス糖液におけるキシロース発酵に関わる代謝制御機構とレドックスアンバランスの仕組みを解明する。得られた情報に基づき、最終的に実用化に向けた高性能なキシロース資化酵母の新規プラットフォームとして開発し、実バイオマスの高度利用を目指す。

### 3. 研究の方法

申請者はNBRC に登録されている酵母のライブラリーからキシロース取り込み可能な酵母を選出し、キシロース取り込み機構を反転膜技術によって *in vitro* 解析する。また、メタボローム解析および遺伝子発現量の解析により、キシロース取り込みに関与する関連遺伝子をすべて同定してクローニングする。高性能な発酵酵母に特定遺伝子を入れることにより、実バイオマスから効率よくグルコースとキシロース発酵ができることを前提にして、総合的オーミックス解析を行う。得られた情報については、キシロース代謝酵母の新規プラットフォームの創生に利用し、実バイオマス(阻害剤が多く含まれている)からのグルコースおよびキシロースのエタノール発酵能を飛躍的に向上したシステムを開発する。目標はエタノール対キシロース収率を 80%以上目指す。

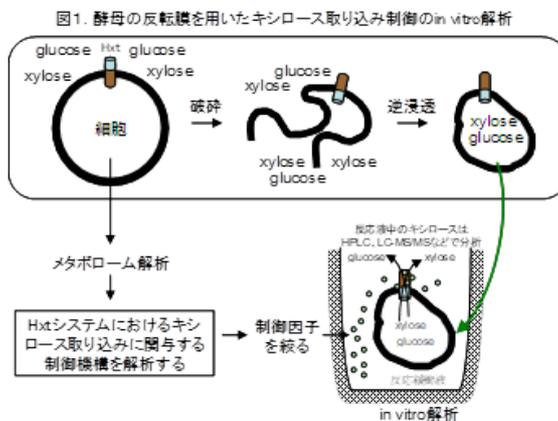
具体的に次のように記述する。

#### 【平成 28 年度キシロース取り込み評価】

本年度ではNBRC に登録されている酵母株をスクリーニングし、キシロース取り込み可能な酵母株を選出し、実バイオマスの糖液でのエタノール発酵とキシロース資化能を評価する。キシ

ロース取り込み可能な酵母に対してはメタボローム解析と関連酵素遺伝子の発現解析による網羅的代謝評価を行う。

具体的には、当研究室に保管されている NBRC 酵母ライブラリー、特に実バイオマス糖液での発酵データからキシロース取り込み可能な株を抽出する。抽出した酵母株に対しては様々なグルコースおよびキシロース濃度の培地で再発酵し、経時变化的に細胞を回収し、細胞内の代謝産物の解析を LC/MS<sup>2</sup> や GC/MS によって分析する。得られた分析データから代謝マッピングを行い、関連代謝物（たとえば、グルコース - 6 - リン酸からペントースリン酸経路 PPP への代謝物）の変化量を解析する。特異的变化量が確定できたら、それに相当する関連遺伝子の発現量を解析し、異なったキシロース取り込み能をもつ酵母から得られた株間代謝情報変化を網羅的に評価し、共通点を見つける。



### 【平成 29 年度 キシロース取り込み機構の解析】

本年度では平成 27 年度で得られた代謝評価データに基づいて反転膜技術によるキシロース取り込み評価を *in vitro* 解析によって行い、取り込み機構を明らかにする。キシロース取り込み機構とその制御因子を明らかにするために、手法としてはまずキシロース取り込み可能な酵母から細胞膜を回収し反転膜を作製する。超遠心分離により細胞抽出液の分画を行い、サイトゾールに相当する画分に対して LC-MS/MS によるメタボローム解析を行う。これにより、Hxt を調節する糖代謝の変化等を解析し、作製した反転膜を用いてキシロース取り込みの調節機構を図 1 のように *in vitro* レベルでさらに再現し・解析する。

*Saccharomyces cerevisiae* 酵母は Hxt を介して受動輸送によってキシロースを取り込む。酵母の細胞膜には多種の Hxt が存在するが、その中で Hxt5 と Hxt7 がグルコースなしでも発現しキシロースに対して比較的高い基質特異性を示すことは明らかになりつつある。本研究ではまずキシロース取り込み可能な酵母の Hxt5 および Hxt7 におけるキシロースの取り込みに関する代謝機能について解析する。残念ながら Hxt5 および Hxt7 に関するタンパク質構造はまだ解明されていないので、タンパク質構造データに基づいた解析は困難であると判断し、目的を達成させるために、本研究ではすでに確立し実績のある反転膜 (inverted membrane vesicles) 技術を用いて細胞の反転膜を作製し、*in vitro* レベルでその Hxt5 および Hxt7 の機能解析を行う。反転膜技術を用いる利点としては、*in vivo* を無細胞系で容易に再現できることであり、先端的研究でもある一分子観察や膜タンパク機能解析によく用いられる方法である。

キシロースの取り込みについては、細胞内外のグルコースの濃度勾配 (Glu) およびキシロースの濃度勾配 (Xyl) によって制御されると考えられる。酵母の場合は、解糖系代謝活性が高いのでグルコースに対する取り込みも高くなっている。しかし、解糖系で直接利用されないキシロースに対してはその取り込みがグルコースによって抑制されると考えられる。そこで、本年度では、細胞内のグルコースとキシロースに加えて、G6P と T6P をターゲット物質としてメタボローム解析を行い、さらに Hxt5, Hxt7 に加えて、HK2、キシロース還元酵素(XR)およびキシロースデヒドロゲナーゼ(XDH)の発現量も qPCR 法等によって解析し、それぞれの酵素活性については蛍光分光法によって分析する。ペントースリン酸経路は酵素 XR の触媒反応に利用される NADPH の重要な生成経路である。グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G6PDH)の触媒作用により G6P はペントースリン酸経路に代謝されるので、細胞内の G6P の存在はグルコースおよびキシロースの取り込みにおいても重要な制御因子として考えられ、G6PDH 発現量および酵素活性の解析も併せて行う。

### 【平成 30 年度 キシロース代謝機能を付与した改良型酵母のオーミックス解析】

本年度では NBRC に登録されている酵母株のスクリーニングで得られた高性能な発酵酵母に対して関連遺伝子導入を行い、実バイオマスからのエタノール発酵を行い、詳細にオーミックス解析を行う。具体的には、高性能な発酵酵母に関連遺伝子を導入した後、得られた遺伝子組換え酵母におけるキシロースからエタノール生成までの代謝量をメタボローム解析する。キシロースをエタノールに転換する際にその当酵母の代謝がどのように変化するかについて、特に NADP<sup>+</sup>型や NAD<sup>+</sup>型の酸化還元バランスへの影響、またその代謝調節機構についても検討する。そのために、G6P、キシロース-5-リン酸、フルクトース-6-リン酸をターゲット物質としてメタボローム解析、遺伝子発現量分析 (必要に応じてマイクロアレイによる分析) を行う。加えて、実バイオマスの糖液に含まれる阻害剤の影響も、特にキシロース取り込みと発酵に対して調べる。本研究から得られた知見によりキシロース代謝酵母の新規プラットフォームの創生を行い、実バイオマスからのグルコースおよびキシロースからエタノール発酵生成能を飛躍的に向上できるもの(設定目標はエタノール対キシロース収率を 80% 以上目指す)と期待できる。

反転膜を用いた *in vitro* 解析については申請者の経験もあって、既に十分な予備実験を行ったため、データ収集および解析は計画通りに行うことができる。しかし、メタボロームについては、代謝に関わる制御因子が複雑であるため、思わぬ難解な問題が出ると予想される。したがって、メタボローム解析に関する研究が計画通りに進まない場合は、解析に与える要素をさらに絞り、他の Hxt との機能的競合を無くす。さらに呼吸鎖に関わる代謝系の数を減らし、キシロース取り込みに与える糖代謝影響を単純化させる。具体的にはキシロース取り込み可能な酵母を嫌気状態で培養し、よって Hxt5 と Hxt7 の以外その他の Hxt のタンパク発現を抑える。それと同時に呼吸鎖に関わる TCA 回路も不活性化させ、副代謝産物の生成を抑える。

#### 4. 研究成果

##### 4.1. 発酵阻害剤耐性酵母のスクリーニング

NBRC に登録されている酵母のカルチャーコレクションに対して発酵阻害剤耐性株のスクリーニングを行った。スクリーニングには、実バイオマスの前処理（加熱酸処理法）に生成された発酵阻害化合物の模擬組成を含んだ培地を用いた。その結果、発酵阻害剤耐性を有するサッカロミケス酵母 *S. cerevisiae* F118 株は評価されたカルチャーコレクションの中で最も優秀な株である。図2のように、本酵母は発酵阻害剤を含んだ実バイオマスの加水分解液での直行発酵を行うことができ、50g/L のグルコースから高速に 22g/L のエタノールを生成することができた。それに対して、実験室酵母（二倍体株）*S. cerevisiae* BY4743 は約 15g/L しかグルコースを消費できず、5g/L のエタノールを生成することはできない結果であった。しかし、この F118 株はキシロースからの発酵能を有していないため、加水分解液中のキシロースは消費できず、残ったままになっている。キシロースの含量は実バイオマスの種類によって異なっており、ヘミセルロース含有率の高いソフトバイオマスではグルコースと同等の量を含んでおり、キシロース発酵は発酵全体の収率向上に重要な位置づけがある。そこで、我々はキシロース発酵可能な耐性酵母の選定も同時に行った。そのなかで、我々はキャンジダ酵母 *Candida boidinii* K212 株に注目した。図3のように、本酵母株は、低 pH 耐性を有しており、さらにキシロースからエタノール発酵が可能である。キシリトールが生成されないため、キシロースからキシリロースへの変換は十分できていると思われる。しかし、発酵阻害剤耐性は F118 株より比較的に低いため、K212 株がもつキシロース発酵能を F118 株に移す必要がある。

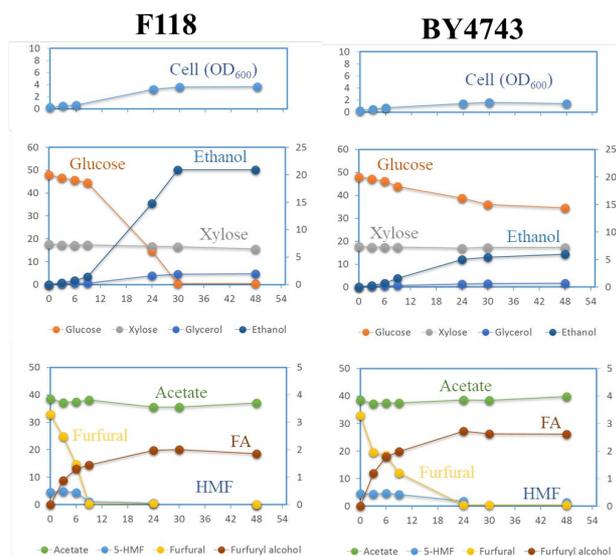


図2. 発酵阻害剤を含んだ実バイオマスの加水分解液でのエタノール発酵。

この F118 株はキシロースからの発酵能を有していないため、加水分解液中のキシロースは消費できず、残ったままになっている。キシロースの含量は実バイオマスの種類によって異なっており、ヘミセルロース含有率の高いソフトバイオマスではグルコースと同等の量を含んでおり、キシロース発酵は発酵全体の収率向上に重要な位置づけがある。そこで、我々はキシロース発酵可能な耐性酵母の選定も同時に行った。そのなかで、我々はキャンジダ酵母 *Candida boidinii* K212 株に注目した。図3のように、本酵母株は、低 pH 耐性を有しており、さらにキシロースからエタノール発酵が可能である。キシリトールが生成されないため、キシロースからキシリロースへの変換は十分できていると思われる。しかし、発酵阻害剤耐性は F118 株より比較的に低いため、K212 株がもつキシロース発酵能を F118 株に移す必要がある。

##### 4.2. K212 ゲノム解析

発酵阻害剤耐性酵母のスクリーニングを行った際、キシロースの利用できる約 240 株が見つかり、それらに対してさらにキシロース発酵能を指標にしたスクリーニングを行った結果、実バイオマスの分解液に多く含まれている発酵阻害物質であるフルフラール、5-HMF、パニリン、シリンガアルデヒド、酢酸、ギ酸およびレブリン酸に耐性を示した *C. boidinii* K212 株を獲得した。当酵母株は、唯一のキシロースからキシリトールを生成せずにエタノール発酵ができる。そこで、de Novo アセンブリにより K212 の全ゲノム解析を行い、キシロース輸送やキシロース発酵に係るコーディング領域（Open Reading Frame, ORF）の特定は 303 スキャフォールド(推定ゲノム領域)からできた。そのなかで、膜輸送関係は 58 ORF であり、シグナル関係は 49 ORF であり、糖代謝関係は 259 ORF である（図4）。

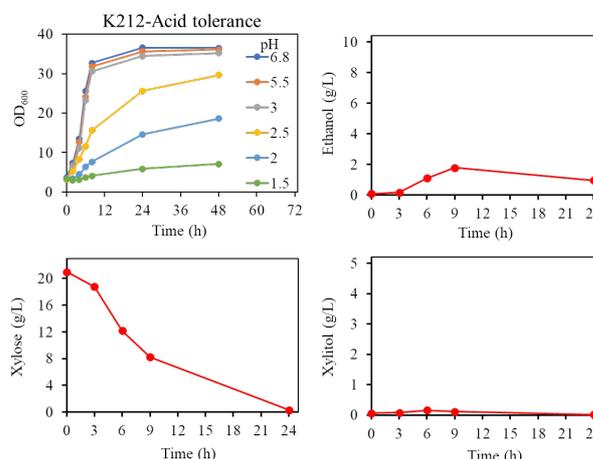
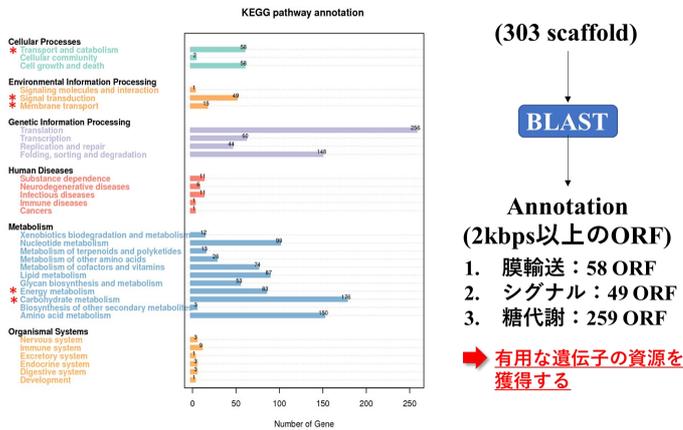


図3. *Candida boidinii* K212株によるエタノール発酵および低pHの耐性。

図4. *Candida boidinii* K212株のDeNovo Assemblyによる全ゲノム解読



XDH は発酵過程から漏れて生じたキシリトールを完全にキシロースに変換するために使われると考えられる。今まで REDOX に偏った XR/XDH/XK 系の導入、それとも REDOX に依存しない XYLA/XK 系の導入(conventional)が多く提案されてきた。こうして、キシロース資化できる ICC 耐性酵母から学んだことで、キシロース発酵の飛躍的向上は XYLA/XDH/XK 系(共同体)の導入から検討すべきであろう。我々は XYLA/XDH/XK 系を評価するために、これらの遺伝子を *S. cerevisiae* に導入してキシロースの発酵機能の評価してみた。

#### 4.3. キシロース発酵遺伝子のクローニングと評価

de Novo アセンブリ法によって解読した K212 株のゲノムに基づいて該当するプライマー設計をし、ゲノム DB に基づいたプラスチ法によって多数の配列が確認できたので、そのなかからキシロース還元酵素遺伝子(XR)、キシリトール脱水素酵素遺伝子(XDH)、キシロースイソメラーゼ遺伝子(XYLA)およびキシロースキナーゼ遺伝子(XK)のクローニングを行った。クローニングした遺伝子の発現と機能性を求めるために、*S. cerevisiae* 酵母での異種発現を試み、サッカロミセス酵母に適したコドンの最適化も行った。TDH3 および TPI1 の ORF を鋳型に、XYLA および XK の強力な発現系を構築し、*S. cerevisiae* BY4741 株に導入してキシロース発酵を試みた。発酵 72 時間で初発 20g/L キシロースから 2g/L を消費し、0.5 g/L のエタノールが生成された。その原因は *S. cerevisiae* におけるキシロースの取り込みと XYLA と XK の発現にある。確認するために、XYLA および XK の遺伝子発現量を qPCR で確認してみた。その結果、XYLA 遺伝子の発現量も XK 遺伝子と比較して高いことはわかり、XYLA および XK の発現問題よりも翻訳修飾に問題があるかもしれない。しかし、キシロースを代謝するためにはそれ以外の調節機構が存在する。何故なら、キシロースはサッカロミセス酵母にとって発酵糖として認識されないのである。今後、翻訳修飾エラーを少なくし、キシロース発酵代謝の全体の最適化が必要である。

キシロース取り込みを向上するために、K212 株からキシロース取り込みに関わる遺伝子をクローニングした。シーケンス解析により得た配列からタンパク構造モデリングを行った(図5)。その結果、K212 由来キシローストランスポーター(GXT1 と命名する)はキシロース取り込み易い構造になっているとわかった。そこで、BY4741 に XDH, XK, XYLA の他に GXT1 も導入し、キシロース発酵を検討してみた。GXT1 を評価するために、プロテオリポソームの膜に GXT1 を再配置したセルフリースシステムを作製し、*in vitro* レベルで反転膜系によるキシロース取り込みを確認した。その結果、GXT1 の導入により、キシロース取り込みが 20% 以上(Xyl 差により外にあるキシロースが 20% 程減ってプロテオリポソーム内のキシロースの濃度が上昇した)確認できた。

*Candida boidinii* K212 株がもつキシロース発酵遺伝子の発現および *S. cerevisiae* のキシロース発酵能の向上を行った。そのために、実験室酵母である BY4741 株に獲得した XYLA 遺伝子、XDH 遺伝子、XK 遺伝子、さらに GXT1 遺伝子を導入し、そのキシロース発酵能を評価した。その結果、20 g/L のキシロースは半分まで(約 8g/L)資化できたものの、エタノールは生成されず、消費されたキシロースからキシリトールが 3 g/L まで生成された。キシリト

K212 株のゲノムにはキシロース還元酵素(XR 相当)、キシリトール脱水素酵素(XDH 相当)およびキシロースキナーゼ(XK 相当)をコーディングする遺伝子が存在している。面白いことに、キシロースイソメラーゼ(XYLA 相当)の遺伝子も確認できたため、ある条件下で XR の代わりに、XYLA が使われる可能性が高いと考えられる。発見した K212 由来の XYLA は細菌類 *Pyromyces* 由来ものと比較できる推定タンパク構造をもっており、活性のある真核類キシロースイソメラーゼとして提案できる。さらに、

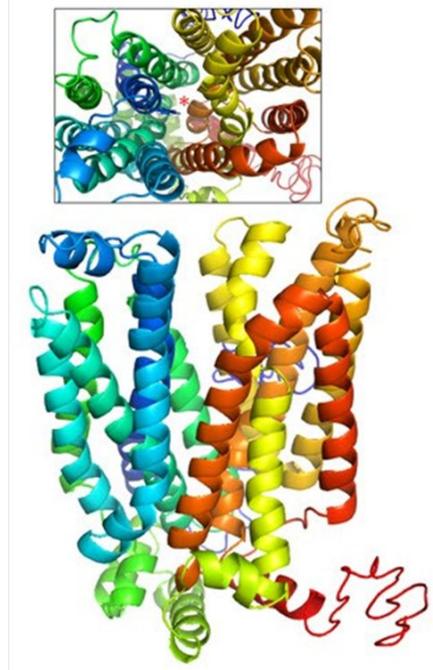


図5. *Candida boidinii* K212由来キシロース取り込み可能なトランスポーター(GXT1)。

ールの生成は BY4741 株がもつアルドラーゼによって生成されたものと思われる。キシロースがキシリトールに変換されたきっかけは GXT1 の導入によりキシロースが多く細胞内に取り込まれたことだと考えられる。GXT1 トランスポーターは HXT7 に比べて活性が高いと判った。図 5 のように、GXT1 のタンパク構造（推測モデルにより）から HXT7 と比較した際に、438 位のフェニルアラニンがトランスポーターの空洞の中心に存在し、オープン構造になっているため、キシロースが撮りやすい構造になっている。こうして GXT1 の使用はキシロール取り込み能の向上に有効な方法であることが判った。しかし、現状の XYL4 の活性は非常に弱いのが確実なので、その改善方法として K212 株のゲノム上から他のキシロース発酵に起用する遺伝子の追加探索を行った。そこで、K212 株には意外に従来の NADPH をキシロース還元酵素遺伝子 (XR) およびキシリトール脱水素酵素遺伝子 (XDH) を有していることが判った。その XR と XDH は両方とも NADP(H) を補酵素因子として優先的に利用しており、NADP(H) のリサイクルにより今まで問題になっている酸化還元の不均衡を解消できると期待している。そこで、K212 株由来 XR および XDH を BY4741 株のゲノムに導入し、組換え株はキシロース発酵ができるようになった。

#### 4.4. 発酵阻害剤耐性酵母 F118 株によるキシロース発酵

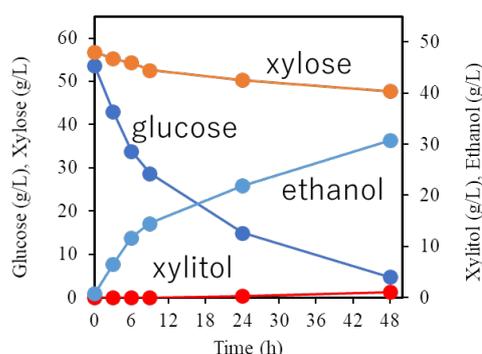


図 6. キシロース発酵能を付与した *S. cerevisiae* F118 株のエタノール発酵。発酵は発酵阻害剤存在下で行った。

本研究で獲得した K212 株由来キシロース発酵遺伝子 XR, XDH, XK, XYL4 および GXT1 の一括導入は発酵阻害を受けた培養条件下でキシロース発酵を可能にすることが確認された。そこで、我々はこれらの遺伝子を発酵阻害剤耐性酵母である *S. cerevisiae* F118 株に導入し、F118 株にキシロース発酵能を付与してみた。図 6 のように、F118 株は阻害剤存在下でもグルコースとキシロースを同時に資化し、50g/L グルコースと 50g/L キシロースから約 30g/L エタノールを生成することに成功した。この値は消費されたグルコース（約 50g/L）およびキシロース（約 12g/L）に対して理論収率の約 90% 以上達成できた。しかし、グルコースに比べてキシロースの消費速度が遅く、キシロース発酵の全体的最適化が今後の研究課題である。

ストレス環境下ではキシロース資化できる組み換え *S. cerevisiae* 酵母の確立ははじめてであり、今後このような株を用いて実バイオマスからの高効率エタノール発酵システムの確立および応用が可能になる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Amoah, J., **Kahar, P.**, Ogino, C., Kondo, A. (2019) Bioenergy and Biorefinery: feedstock, biotechnological conversion and products. *Biotechnol. J.* <https://doi.org/10.1002/biot.201800494>
2. **Kahar, P.**, Riyanti, E. I., Otsuka, H., Matsumoto, H., Kihira, C., Ogino, C., Kondo, A. (2017) Challenges of non-flocculating *Saccharomyces cerevisiae* haploid strain against inhibitory chemical complex for ethanol production, *Bioresour. Technol.*, 245:1436-1446.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. **Prihardi Kahar** “酵母カルチャーコレクションからのバイオエタノール生産のための優良酵母の選抜と評価” in “酵母の多様性：分類と応用” 日本微生物資源学会主催、微生物系統分類部会シンポジウム、東京、(2019/2)
2. **Prihardi Kahar**, 紀平知枝, 大塚裕美, 荻野千秋, 近藤昭彦 *Saccharomyces cerevisiae* 酵母における *Candida boidinii* 由来キシロース発酵代謝系の導入効果 日本農芸化学会 2018 年度大会 (2018/3)
3. **Prihardi Kahar**, 紀平知枝, 大塚裕美, 荻野千秋, 近藤昭彦 発酵阻害物質耐性 *Candida boidinii* K212 のキシロース発酵の解析 第 69 回日本生物工学会大会 (2017/9)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ <https://researchmap.jp/pkahar/>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。